

(51) Int.Cl. <sup>6</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 2 3 C 17/00			A 2 3 C 17/00	
A 0 1 J 11/06			A 0 1 J 11/06	
B 0 1 D 61/14	5 0 0		B 0 1 D 61/14	5 0 0

審査請求 未請求 請求項の数2 FD (全9頁)

(21)出願番号 特願平7-349060	(71)出願人 よつ葉乳業株式会社 北海道札幌市中央区北4条西1丁目1番地
(22)出願日 平成7年(1995)12月21日	(72)発明者 元島 英雅 北海道札幌郡広島町輪厚465-1番地 よ つ葉乳業株式会社リサーチセンター内
	(72)発明者 澤口 哲也 北海道札幌郡広島町輪厚465-1番地 よ つ葉乳業株式会社リサーチセンター内
	(72)発明者 栗城 均 北海道札幌郡広島町輪厚465-1番地 よ つ葉乳業株式会社リサーチセンター内
	(74)代理人 弁理士 久保田 藤郎

最終頁に続く

(54)【発明の名称】牛乳脂肪球膜含有画分の製造法

(57)【要約】

【課題】バターミルクから簡便な方法で、しかも製造工程で薬剤等を一切加えないで牛乳脂肪球膜含有画分を得る方法を提供すること。

【解決手段】孔径0.5~6.0μmの精密濾過膜を用いてバターミルクを処理して該バターミルクに含まれる牛乳脂肪球膜含有画分を分離することを特徴とする牛乳脂肪球膜含有画分の製造法。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 孔径0.5～6.0μmの精密濾過膜を用いてバターミルクを処理して該バターミルクに含まれる牛乳脂肪球膜含有画分を分離することを特徴とする牛乳脂肪球膜含有画分の製造法。

【請求項2】 孔径0.5～6.0μmの精密濾過膜を用いてバターミルクを処理し、膜を透過しなかった保持液に加水して透析処理を行い牛乳脂肪球膜含有画分を濃縮することを特徴とする高純度の牛乳脂肪球膜含有画分の製造法。

## 【発明の詳細な説明】

### 【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は牛乳脂肪球膜含有画分の製造法に関し、詳しくはバターミルクを原料として高純度の牛乳脂肪球膜含有画分を製造する方法に関する。

### 【0002】

【従来の技術】 牛乳脂肪球膜 (Milk Fat Globule Membrane) は通常MFGMと略称されることが多いが、最近では同じものを牛乳脂質球膜 (Milk Lipid Globule Membrane) とも呼び、MLGMと略称されることもある。ここでは牛乳脂肪球膜という名称を用い、以下MFGMと略記する。また、本明細書ではMFGM含有画分を単にMFGMと呼ぶことがある。牛乳に含まれる脂肪の大部分は脂肪球の形で乳汁中に分散している。この脂肪球が安定なエマルジョンを形成できるのは、疎水性の高い脂質と外界の水との仕切りの役割をしているMFGMが存在しているからである。このMFGMは、牛乳中のこのような役割からみても、強い乳化性が期待できる。実際に、MFGMの乳化性が高いことが菅野によって報告されている (Kanno, C. J. Food. Sci. 54(6), 1534-1539, (1989))。そのため、MFGMは食品用や医薬用あるいは化粧品用の乳化剤として利用価値が高いものである。

【0003】 ところで、乳製品工業の分野では、牛乳からのクリームの分離や牛乳中の微生物の除去、あるいは牛乳中のカゼインなどのタンパク質の回収、脱塩などに精密濾過膜が用いられている。しかしながら、MFGMの生産に精密濾過膜を利用することは、従来全く試みられていなかった。なお、実験室的には、十分に水洗したクリームをチャーニングしてMFGM画分をバターミルク側に移行させ、①等電点 (3.9から4.0) になるようにpHを調整したのち、遠心分離して沈殿させる方法、②超遠心で回収する方法、③アルコールなどの有機溶媒などで抽出する方法、④硫酸アンモニウムで塩析する方法などの複雑な工程を経てMFGMを調製している。ここで、クリームの水洗とは、クリームに水を加えて混合した後、クリームセパレーターなどでクリームを再度分離するという工程を何回か繰り返してクリーム中のカゼインや乳糖などの含量を減らす操作を言う。その他、通常のバター製造の副産物として得られるバターミルクを限外濾過

等で濃縮した後に等電点沈殿させる方法なども報告されているが、この場合は酸などの添加物が必要であり、カゼイン等を除去するために、さらに精製工程を必要とする。そのため、これらの方法ではMFGMの製造過程で副産物を生じる上に、製造工程も複雑である。

### 【0004】

【発明が解決しようとする課題】 MFGMをバターミルクから製造する場合に、既知の方法では水洗したクリームからバターを製造し、その際に生じたバターミルクを用いていた。そのため、加水された脱脂乳が大量に発生し、バターの風味にも影響を与えるばかりでなく、工程上も複雑になるなどの理由から、商業的な製造には適していない。特に、MFGMを食品や医薬品の分野で利用する場合は、製造工程で薬剤などの乳成分以外のものを添加することは安全上の立場から望ましくないことである。したがって、本発明の目的は、バターを製造する工程で生じるバターミルクから、できるだけ簡単な工程で、しかも製造工程で一切薬剤を加えないでMFGMを高純度で含む画分を得る方法を開発することである。

【0005】 本発明者らは、かかる課題を解決すべく鋭意検討を重ねた結果、精密濾過技術 (ミクロフィルトレーション) を用いることにより、水洗していない通常のクリームをチャーニングすることによって生じたバターミルクから高純度でMFGMを含む画分を生産する方法を見出し、本発明を完成したのである。

### 【0006】

【課題を解決するための手段】 請求項1記載の発明は、孔径0.5～6.0μmの精密濾過膜を用いてバターミルクを処理して該バターミルクに含まれる牛乳脂肪球膜含有画分を分離することを特徴とする牛乳脂肪球膜含有画分の製造法である。また、請求項2記載の発明は、孔径0.5～6.0μmの精密濾過膜を用いてバターミルクを処理し、膜を透過しなかった保持液に加水して透析処理を行い牛乳脂肪球膜含有画分を濃縮することを特徴とする高純度の牛乳脂肪球膜含有画分の製造法である。

### 【0007】

【発明の実施の形態】 前記したように、MFGMはバターミルクを原料として製造するが、バターミルクとは、バター製造の際にチャーニングによりバター粒が形成されたときに残る水相部のことを言い、組成的に脱脂乳とほとんど変わらない。本発明により、孔径0.5μmから6.0μmという大きな孔径の精密濾過膜を用いてバターミルクを処理すると、牛乳中のカゼインなどのタンパク質や乳糖などの成分を除くことができ、効率よくMFGMを得ることが可能である。例えば、もし原料バターミルクからの精密濾過によるMFGM成分の回収率が5%であるとすれば、95%のMFGM成分は透過液に含まれるので、透過液の成分は事実上、原料に用いたバターミルクの成分とほとんど差がなく、そのままバターミルクパウダーや濃縮バターミルクの製造に用いることができるので、

MFGM製造における原材料費用を非常に低くすることが可能である。

【0008】バターの製造によって破碎された脂肪球の膜画分はMFGMとしてバターミルク中に分散していると考えられるが、その粒子としての大きさは広い範囲に分布していると考えられる。そのため、大孔径の精密濾過膜を使用してMFGMを製造する本発明の方法では、MFGMの大半が回収できずに、透過液側に漏出してしまう。しかし、このものは、前述したように、バターミルクとしての利用が可能であるため、事実上そのロスは考慮しなくてもよい。本発明はかかる発想によって成立したものである。

【0009】以下に本発明のMFGMの製造法について詳しく説明する。まず、原料としては、通常のバターの製造の際に生じるバターミルクを用意する。なお、バターミルクを粉末化したバターミルクパウダーあるいは濃縮バターミルク製品を水等で適当な濃度に還元したものも同様に原料として用いることができる。さらに、クリームから直接的にバターオイル（無水バター）を製造する場合も、バターミルクが副産物として生じるので、これを原料とすることができます。また、発酵バター製造の際に生じるバターミルクのpHは、発酵の度合いによって通常pH4.5から5.4前後であるが、カゼインの等電点（pH4.6）以上であれば、それをそのまま本発明の原料として用いることができる。もしも、pHが4.6未満の場合は、バターミルク中のカゼイン等のタンパク質が等電点で凝集するので、原料バターミルクのpHを中性（pH7.0前後）にまで調整する必要がある。このような例外を除き通常のバターミルクのpHは6.5前後の中性を示し、そのまま本発明の原料として用いることができる。本発明の方法は、MFGMの製造工程で、一切の化合物等の薬剤を添加しないことが製造上の特徴の一つであり、MFGMの製造に用いる原料のバターミルクは、pHが4.6以上であれば、極力pH調整を行わずにバターミルクそのもののpHで本発明を実施することが望ましい。

【0010】精密濾過膜としては、材質に制限はなく各種のものを使用でき、その素材としてはガラス纖維、ステンレススチール、合金を始めとする各種金属纖維、各種セラミックス及び陶磁器質、各種天然物質や合成高分子物質等がある。また、形状も様々のものがある（中垣正幸 監修、膜処理技術体系 フジテクノシステム、1991年参照）。本発明においては、後記の実施例で示したように、セラミック製の精密濾過膜が好適である。なお、濾過膜の材質を選択するにあたっては、特に孔径の分布範囲や処理能力などを考慮すべきである。

【0011】精密濾過膜の孔径を決定する場合に留意すべきことは、バターミルク中に大量に含まれるカゼインは会合してカゼインミセルと呼ばれる巨大な粒子を形成しているので、このミセル状のカゼイン（平均約0.2

$\mu\text{m}$ 程度の大きさを有すると言われる）は透過できて、MFGMはその少なくとも一部が通過できないような精密濾過膜を選定することである。したがって、本発明では孔径が0.5  $\mu\text{m}$ 以上で6.0  $\mu\text{m}$ 以下である精密濾過膜を用いるが、孔径が0.5  $\mu\text{m}$ 以上で2.0  $\mu\text{m}$ 以下のものが好ましい。

【0012】ところで、精密濾過膜を用いてバターミルクを処理し、MFGM画分を取得する場合、原料のバターミルクの温度を5～70°C、好ましくは35～60°Cに調整すると、流速が改善され、あるいは5～20°Cに調整すると、MFGMの回収率が高くなり、精密濾過を効率よく行うことができる。

【0013】本発明の方法により原料のバターミルクを精密濾過膜で処理したとき、濾過膜を透過せずに、保持された保持液側にはMFGMが含まれており、MFGM含有画分を取得することができる。この画分に水を加えて透析しながらさらに精密濾過を行うと、保持液に含まれていた低分子の乳糖などの成分とミセル状のカゼインを含む大部分のタンパク質は透過液側に移行する。したがって、この操作によって保持液側においてMFGMのみが相対的に濃縮され、カゼインや乳糖等を効率よく除去できる。また、加水する水の量を増やすことによって精製度を上げることができる。このようにして、高純度のMFGMを得ることができる。

【0014】濃縮されたMFGMを大量に含む画分は、そのまままで乳化剤等としての利用に供することができるけれども、所望によりMFGM含有画分を濃縮、噴霧乾燥あるいは凍結乾燥等の処理を施すことによって高純度のMFGM調製品を得ることができる。なお、MFGM成分が濃縮されているかどうかの確認は、後記の実施例2で示したように、SDS-ポリアクリラミドゲル電気泳動（SDS-PAGE）でMFGMに特有な成分であるキサンチンオキシダーゼ、ブチロフィリンなどの膜タンパク質が濃縮されていることを確認すればよい。

【0015】本発明者らが検討したところ、脂肪球破碎後も比較的大きなサイズを持つものがあり、前記した孔径、例えば2  $\mu\text{m}$ といった非常に大きな孔径の精密濾過膜でも、一部のMFGMは保持液側に保持できることが明らかになった。特に、ミセル状のカゼインの粒子としてのサイズの分布は、MFGMの粒子としてのサイズの分布と重なるが、後記の試験例1でも明らかなように、ミセル状のカゼインは大きなものでも1.2  $\mu\text{m}$ 以下に分布しているのに対し、MFGMはサイズの分布が広い範囲にわたり、1.2  $\mu\text{m}$ 以上6.0  $\mu\text{m}$ という大きなものもある。そのため、例えば孔径1.4  $\mu\text{m}$ の膜であれば、バターミルク中に分散しているMFGM成分中の大きめの粒子サイズの部分を回収し、しかもミセル状のカゼインは透析を行うことによって効果的に除去することができるので、MFGM成分を多く含む画分を経済的に製造することが可能である。

## 【0016】

【実施例】以下に実施例を挙げて本発明をさらに具体的に説明するが、本発明はこれらにより制限されるものではない。

### 試験例1

#### バターミルク中のMFGM成分の粒子径の分布

本発明の方法により分離、回収するMFGM成分の粒子としての大きさを把握するために、生クリーム（4.7%脂肪分生クリーム）と脱脂乳及び原料に用いるバターミルク中のコロイド粒子の粒度分布を調べた。各サンプルを水に分散させ、レーザー回折／散乱式粒度分布測定装置

（堀場製作所LA-700型）でそれぞれの液の粒度分布を調べた。得られた結果を図1にまとめて示した。この図は、実測値を基にして、それぞれの溶液の粒度分布を重ね合わせて示したものである。生クリームの粒度分布はメジアン径が約3 μmであることが分かる。これは、脂肪球の大きさが3 μmを中心に分布していることを示している。生クリーム中にはカゼインも脱脂乳と同等程度に含まれているが、図は相対的な粒度分布を示しているために、ミセル状のカゼインによるピークは見かけ上、グラフには見られない。

【0017】一方、脱脂乳の粒度分布は脂肪球がほとんど存在しないため、生じるピークはミセル状のカゼインによるものとなり、そのメジアン径は0.17 μmである。バターミルクの粒度分布は、一番大きなピークはやはりミセル状のカゼインの粒度分布を示している。その右側に見られる約1.8 μm前後にピークを持つ粒度分布を示す成分は、主にMFGM成分によって生じた分布と考えられる。バター製造によって脂肪球のほとんどは破碎されていると考えられるから、脱脂乳の粒度分布に見られない0.8 μm以上の粒度分布を示す成分は、主にMFGM成分と考えられる。それ故、このような画分の一部を回収できる孔径の精密濾過膜を用いれば、目的とするMFGM成分を回収できると予想される。

【0018】膜の公称孔径に対して、実際の膜の孔径分布はメーカーによって幅があり、一般に膜の公称孔径はその膜に分布する最大の孔径をもって示すことが多い。例えば、市販のセラミック製の精密濾過膜でみると、公称の孔径（セラミック濾過膜の表面に存在する膜の孔径のことを特に細孔径と称し、実際の分画性能を示すが、ここではすべて孔径という。）が0.1 μmの精密濾過膜は、実際には0.05 μmから0.1 μmまでの孔径が分布している。それ故、公称孔径が0.1 μmの精密濾過膜を用いると、ミセル状のカゼインも容易に濃縮されてしまうので、MFGM成分を回収して主な夾雑物であるミセル状のカゼインを効果的に除去するには0.5 μm以上の孔径の膜を用いる必要があることが分かる。例えば公称孔径1.0～2.0 μmの膜を用いれば、MFGMのかなりの部分が透過してしまうが、ミセル状のカゼインを効果的に濾液側に除去できるので、MFGM成分のみを回

收することができる。さらに大きな孔径の膜でもMFGM成分の回収率は低くなるが、一層効果的にミセル状のカゼインを除去できるので、MFGM製造に用いることができる。

## 【0019】試験例2

#### 水洗したバターミルクからのMFGMの生産

本発明の方法によりMFGM画分を製造するための比較として、水洗したクリームを用いてMFGM画分を製造した。4.7%脂肪クリーム（18 kg）を40℃に加温し、3倍量の水（40℃）を加え、クリームセパレーターでクリーム画分を得た。この操作を3回繰り返し、クリームセパレーターで水洗クリーム画分を得た。水相へ移行する画分は除去した。この水相画分は、主にカゼインと乳糖を含んでいる。ここで得られたクリーム画分（12.71 kg）の脂肪分は55.8%であったので、加水して脂肪分を40%に調整し、10℃に冷却した後、バターチャーンによってチャーニングを行った。チャーニング後、バターミルクを回収した。また、このときにできたバター（9.29 kg）を40℃に加温した後、半量の水（40℃、4.65 kg）を加え、再度クリームセパレーターによって水相を回収し、前記バターミルクと合わせた（24.47 kg）。

【0020】次に、この画分を逆浸透膜（RO膜）処理によって濃縮し（2.76 kg）、凍結乾燥を行い29.52 gの凍結乾燥品を得た。本方法では、十分に水洗したクリームからチャーニングによって生じたバターミルクから調製し、等電点沈殿や超遠心、塩析等の処理を行わず、全体を凍結乾燥している。それ故、MFGMに必須な成分はすべて含まれているため、これを水洗MFGM調製品として、精密濾過膜で調製したMFGM調製品との比較の材料とした。

## 【0021】実施例1

#### バターミルクからの精密濾過装置でのMFGMの生産

バターミルクを原料とする精密濾過によるMFGMの生産は次のように行った。使用した精密濾過装置はアルファラバル社製 Micro filtration pilot plant Type MFS-1型で、膜モジュールは Type SCT-MEMBRALOX, special A LFA-LAVAExecution (1P19-40-0.2M2-316L-1.4MICRON) であり、公称孔径は約1.4 μm（カタログ記載の値）であった。

【0022】まず、バターミルク30 kgを50℃に加温して流速約480リットル/m<sup>2</sup>h（膜面積1 m<sup>2</sup>あたりの1時間あたりの透過液流量）で上記の精密濾過装置にかけた。その結果、約5.0リットルの保持液を得た。これを保持液1とする。保持液1に50℃に加温した水を27リットル加えて再度MFS-1型装置で同様に処理した。この処理で得られた保持液を保持液2とする。保持液2に再度50℃に加温した水27リットルを加え、同様にMFS-1型精密濾過装置にかけた。ここで得られた保持液を保持液3とする。保持液3に約50℃に加

温した水27リットルを加えて同様にMFS-1型で処理した。その結果得られた保持液を保持液4とする。最終的に得られた保持液4は約5kgであった。これらの保持液の成分を近赤外分析装置（フォス エレクトリック社製、ミルコスキャン104型）で分析したところ、第1

表に示した結果が得られた。この表から明らかに約3回の加水で保持液の乳糖含量は非常に減少していることが明らかとなった。

### 【0023】

#### 【表1】

第1表

	重量(kg)	脂肪分(%)	タンパク質(%)	乳糖(%)
保持液2	5	0.26	0.9	0.46
保持液3	5	0.16	0.5	0.08
保持液4	5	0.1	0.36	0.01

【0024】保持液4の粒度分布を試験例1と同様に測定したところ、図2に示したような結果が得られ、濃縮されている成分は0.5μmから6μmに分布していることが明らかとなった。この保持液4を凍結乾燥して、23gの凍結乾燥物を得た。これを精密濾過MFGM調製品とした。この方法で製造した精密濾過MFGM調製品の典型的な成分分析値は、全固形分98.5%、タンパク質38.7%、脂肪分57.03%、灰分1.68%、乳糖0.25%であった。

### 【0025】実施例2

#### MFGM調製品の分析

試験例2で製造した水洗MFGM調製品と実施例1で得た精密濾過MFGM調製品をSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動(SDS-PAGE)で比較した(図3, 4)。なお、ゲルの濃度は10%とし、レムリーの方法(U. K. Laemmli, Nature (London), 227, 680-685 (1975))に従った。図3にはSDS-PAGEのゲルをクマーシーブリリアントブルーで染色したものを見せる。レーン1は原料のバターミルクの泳動パターンを示しており、レーン1はバターミルクに含まれている主要タンパク質のバンドがすべて見られる。CB1はキサンチンオキシダーゼ(xanthine oxidase)として知られている成分である。この名称は、タンパク質の少なくとも一部はキサンチンオキシダーゼ活性があることが知られているため、その他に様々な酵素活性があることが知られている。また、CB5はブチロフィリン(butyrophilin)と呼ばれるタンパク質で、非常に疎水性が高く、脂肪との親和性が高いとされる。CB6, CB7としているバンドは主に分子量44000と48000の糖ポリペプチドから構成されており、グリコプロテインBとして知られている。

【0026】MFGMの調製法として種々の方法が知られているが、これらキサンチンオキシダーゼ、ブチロフィリン及び分子量44000と48000のグリコプロテインBは必ず見出され(T. W. Keenan and S. Patton, in "Handbook of Milk Composition", ed. by R. G. Jensen, Academic Press, San Diego, Calif., 1995, pp. 5-50)、MFGMの主要タンパク質成分である。それ故、これ

らのバンドの相対的な濃さはMFGM成分の回収の度合いを評価する良い指標になる。分子量マーカーと比較して約3万前後に見られる濃いバンドは主にαカゼインとβカゼイン及びκカゼインのバンドを示す。さらにその下の分子量14400から20100の間にある2本のバンドは主にMFGMに由来するリポタンパク質のものと考えられる。

【0027】レーン2は実施例1で1.4μmの精密濾過膜を透過した透過液の加水前のものの泳動パターンを示す。図から明らかに、原料に用いたバターミルクとほとんど同じパターンを示し、カゼインなどはそのまま透過していることが分かる。しかし、MFGMの主要成分であるCB1及びCB5に相当するバンドがレーン1の透過液に比べ相対的に薄いことが明らかである。レーン3は保持液2の泳動パターンである。保持液2は加水されて透析されているので、カゼインのバンドは薄くなり、MFGMの構成成分であるCB1, CB5, CB6, CB7に相当するバンドが相対的に濃くなっている。MFGMが濃縮されていることが明らかである。また、レーン4は保持液4の泳動パターンで、保持液2よりもさらに透析されてカゼインのバンドがほとんどみられないこと並びに特にCB5のバンドが一番濃いことが分かる。レーン5は比較に用いた試験例2の水洗MFGM調製品の分離パターンである。

【0028】このように、レーン2を見れば分かるように、精密濾過膜を透過した透過液は原料バターミルクと非常に近似した組成を持っていると考えられ、僅かにMFGM成分が回収されただけである。それ故、透過液を原料に戻すことによって原料のバターミルクはその成分をほとんど損なわずに、バターミルクパウダーや濃縮バターミルクなどの製品の製造に用いることができる。また、レーン4とレーン5を比較して分かるように、精密濾過膜で製造した精密濾過膜MFGM調製品は水洗したクリームから調製したMFGMと非常に類似した組成を持っていると考えられ、特にMFGM成分として重要なCB1, CB5, CB6, CB7などの成分はすべて含まれている。また、カゼインはほとんど含まれていないことが分かる。なお、レーン6は分子量マーカーである。

【0029】図4は、同じSDS-PAGEをPAS染色と呼ばれる方法で特に糖鎖のついた糖タンパク質を染色したものである。この結果、精密濾過MFGM調製品ではMFGMのうちCB1, CB5, CB6, CB7が効率的に濃縮されていることが分かる。特に、CB5のブチロフィリンはよく糖染色される。このことから、精密濾過MFGM調製品は水洗MFGM調製品と同様にMFGM成分を含んでいることが明らかとなつた。また、粒度分布の結果を合わせて考えると、MFGM成分の粒度分布が0.5μm以上6.0μmにわたり広く分布していることから、公称の孔径が6μmという広い孔径の精密濾過膜でも実際の孔径は大部分が6.0μm以下に分布しているから、膜の種類によってはMFGMの回収が可能であると考えられる。

#### 【0030】実施例3

##### 精密濾過膜の孔径による影響

既に述べたように、1.4μmの孔径の精密濾過膜でMFGMを製造する事が可能であることを示したが、ここでは公称孔径0.5μm、1.0μm及び2.0μmのセラミック製精密濾過膜を用いて、バターミルクを濾過したときの濾液と濃縮液の粒度分布について調べ、その結果を示す。使用した精密濾過装置は次のとおりである。

装置名：NGK フィルテック社製 セラミック膜フィルター装置

膜モジュール：CEFILT-MF

寸法形状：φ30mm×φ4mm-19mm穴×1000mm（モノリスタイプ）

公称孔径：0.5μm、1.0μm、2.0μm

##### 操作条件

濾過方法：定圧クロスフロー濾過（全循環濃度一定方式）

循環流速：3m/s

濾過圧力：1kg/cm<sup>2</sup>

濾過温度：50℃

以上の条件で原料のバターミルクを濾過し、濾過速度が平衡状態になるまで濾過を行い、濾液と保持液のサンプルを得た。この実験では加水による透析を行っていない。

#### 【0031】原料に用いたバターミルクの粒度分布は図

1に示した。図5は、原料のバターミルクを0.5μm、1.0μm、2.0μmの精密濾過膜を透過した各透過液の粒度分布を示した。これらの結果から、0.5μmから2.0μmまでの精密濾過膜ではすべてミセル状のカゼインは透過液側に漏洩することが明らかである。また、2.0μmの膜を透過できずに、濃縮液側に残った溶液の粒度分布を図6に示した。脱脂乳の粒度分布と比較して、これらの精密濾過膜で0.5μm以上約60μmまでの粒径が相対的に蓄積されていることが明らかである。この溶液を光学顕微鏡で観察したところ、破碎された脂肪球の断片が凝集しているものであることが明らかであった。

【0032】このように、本実験ではすべての孔径の膜で透過液側にミセル状のカゼインが透過していることが明らかなので、加水による透析を行うことによって、どの孔径の膜でもミセル状のカゼインやさらに低分子の乳糖などを効果的に除去しMFGM成分を相対的に濃縮することが可能であることは明白である。例えば公称孔径が6μmという孔径の大きい膜を用いても、図6のように、MFGMの実際の粒子径が0.5μmから約60μmにわたって分布していることと、膜の実際の孔径はもっと小さい孔径から分布していることから、濃縮が可能であることが容易に理解できる。

#### 【0033】実施例4

##### 精密濾過処理時のバターミルク温度の影響

MFGMを精密濾過で製造する場合の原料バターミルクの処理温度が精密濾過MFGM調製品の成分、膜透過速度及び回収率に及ぼす影響について調査した。装置及び方法は実施例1と同様に行った。ただし、処理温度は5℃、13℃、20℃、35℃、50℃、60℃、70℃で実施した。加水して透析する際の水の温度もその処理温度とした。各温度でのMFGMの平均流速（膜面積あたりの透過液の流量）、濃縮液（実施例1における保持液4に相当する凍結乾燥前の精密濾過MFGM調製品）の前記近赤外分析装置による成分、全固形分、収率（原料バターミルクKgあたり）を第2表に示した。

#### 【0034】

##### 【表2】

第2表

温度	平均 流速 (L/m <sup>2</sup> h)	濃縮液の成分				MFGM収率 (g/原料バター ミルク Kgあたり)
		タンパク質 (%) *	脂肪 (%) *	乳糖 (%) *	全固形分 (%) **	
5℃	102	0.28	0.10	0.02	0.41	2.01
13℃	145	0.29	0.08	0.03	0.41	1.92
20℃	86	0.55	0.19	0.01	0.77	1.64
35℃	486	0.29	0.11	0.02	0.43	1.10
50℃	545	0.28	0.16	0.03	0.48	1.19

60 °C	523	0.31	0.14	0.03	0.49	1.15
70 °C	98	0.34	0.13	0.03	0.51	1.07

\* 近赤外分析装置による、 \*\*乾燥法による

【0035】この結果、MFGMの回収率は処理温度が低い程、高い傾向にあった。時間あたりの膜の処理能力は平均流速で表されるが、50 °Cのときが最も大きく、35 °C以下あるいは70 °Cのときは低下した。これらの結果から、MFGMの回収率をあげるには、5 °Cから20 °Cといった低温で精密濾過を実施するのが望ましく、また時間あたりの膜の処理能力をあげるには、35 °C以上60 °C程度の温度で実施するのが望ましい。このように、本発明の方法は5 °Cから70 °Cまでの広い範囲で実施可能であると考えられる。

#### 【0036】

【発明の効果】本発明によれば、バターミルクから簡便な方法でMFGMを得ることができる。しかも、精製のための溶媒、その他の薬剤の添加や硫安塩析、pH調整による等電点沈殿、遠心分離などの複雑な精製工程を全く必要としないで、極めて経済的に純度の高いMFGM画分を得ることが可能である。

#### 【図面の簡単な説明】

【図1】 生クリーム、脱脂乳及びバターミルクの粒度分布を示す図である。

【図2】 実施例1で製造した精密濾過MFGM調製品の凍結乾燥前の原液（保持液4）の粒度分布を示す図である。

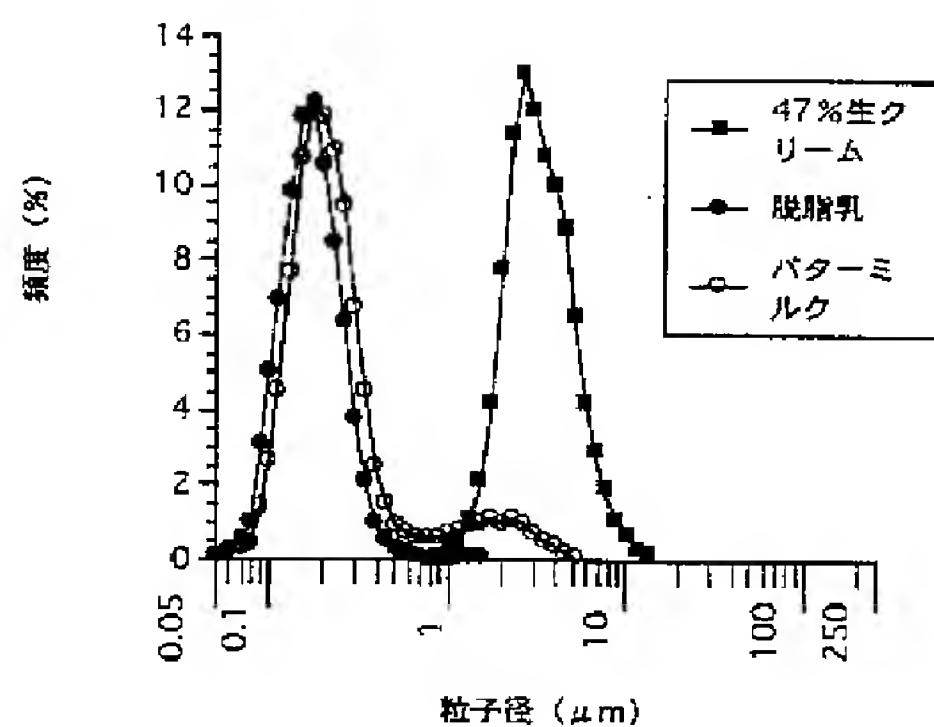
【図3】 試験例2で製造した水洗MFGM調製品と実施例1で調製した精密濾過MFGM調製品のSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動図である。

【図4】 試験例2で製造した水洗MFGM調製品と実施例1で調製した精密濾過MFGM調製品のSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動図である。

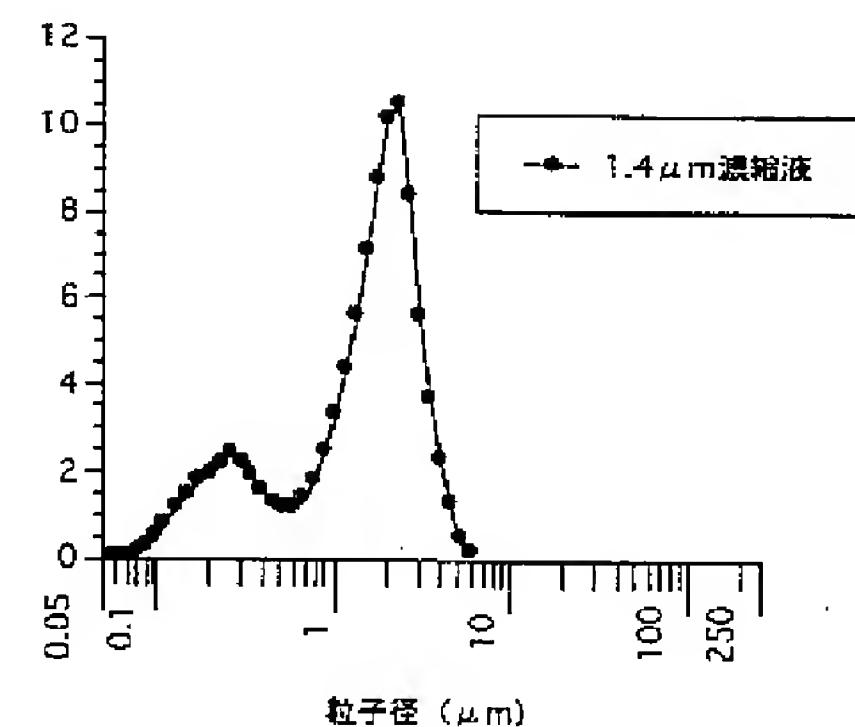
【図5】 バターミルクを公称孔径0.5 μm、1.0 μmあるいは2.0 μmの精密濾過膜で処理したときの透過液の粒度分布を示す図である。

【図6】 バターミルクを公称細孔径2.0 μmの精密濾過膜で処理したときの保持液の粒度分布を示す図である。

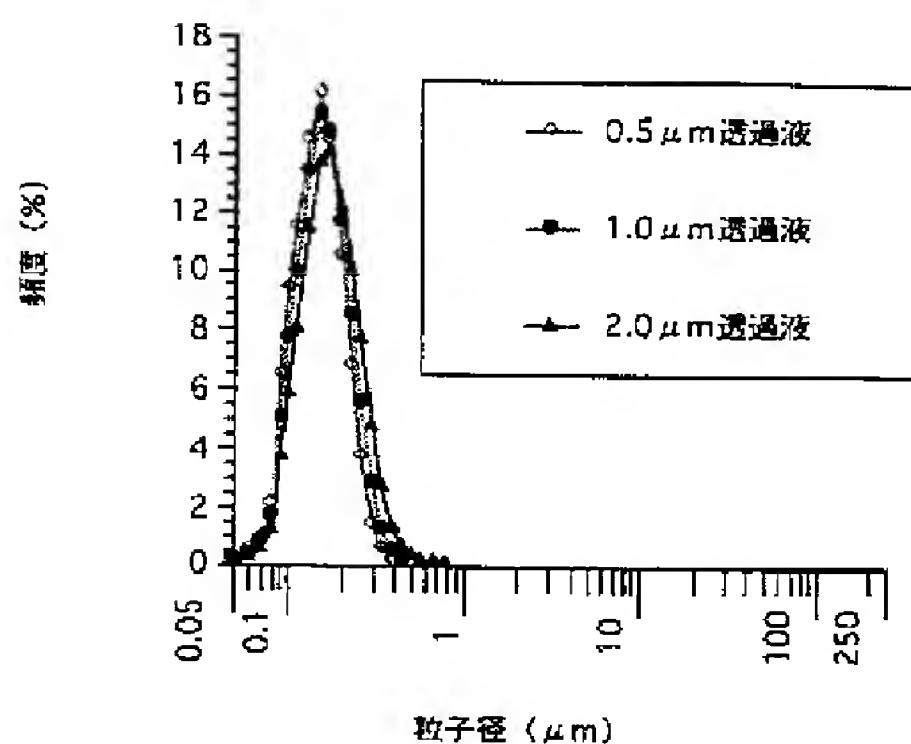
【図1】



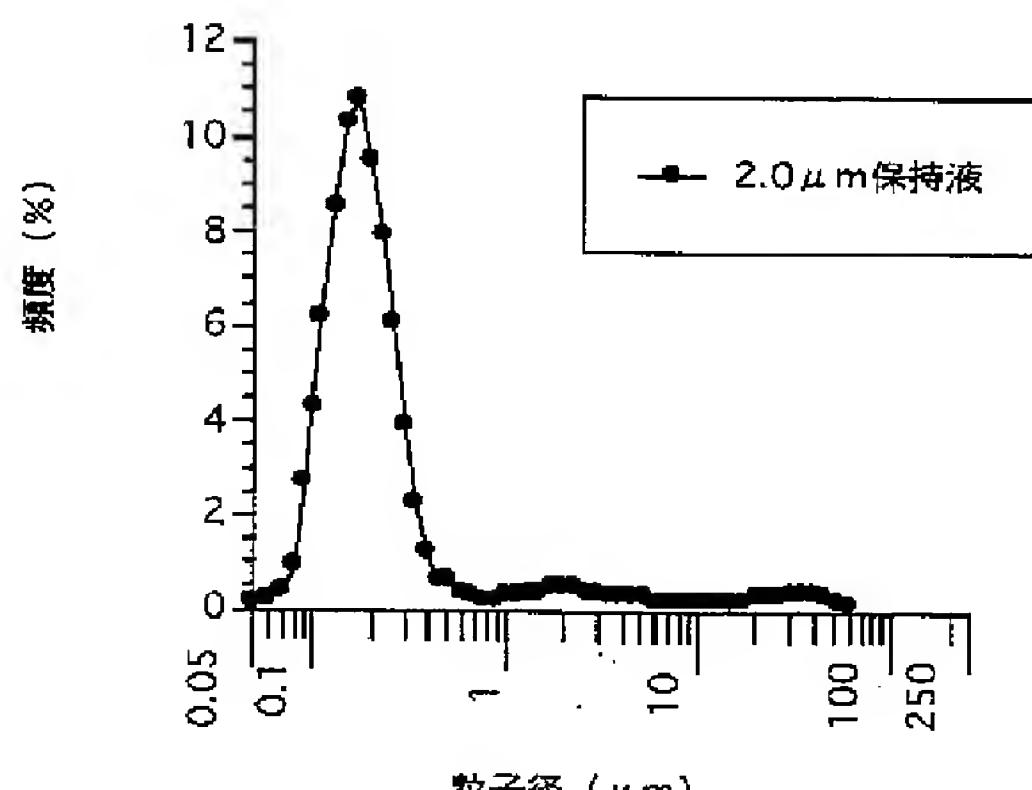
【図2】



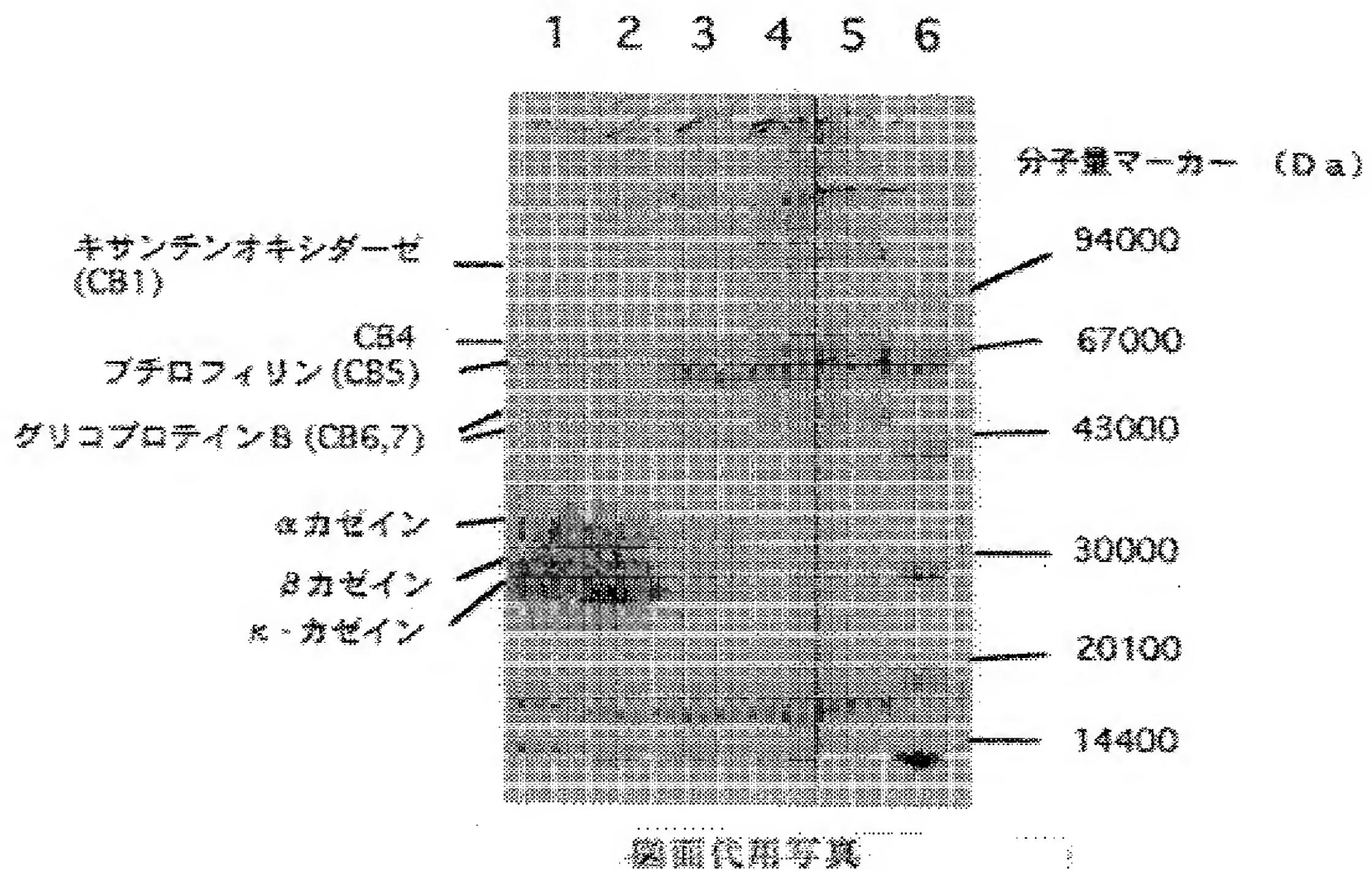
【図5】



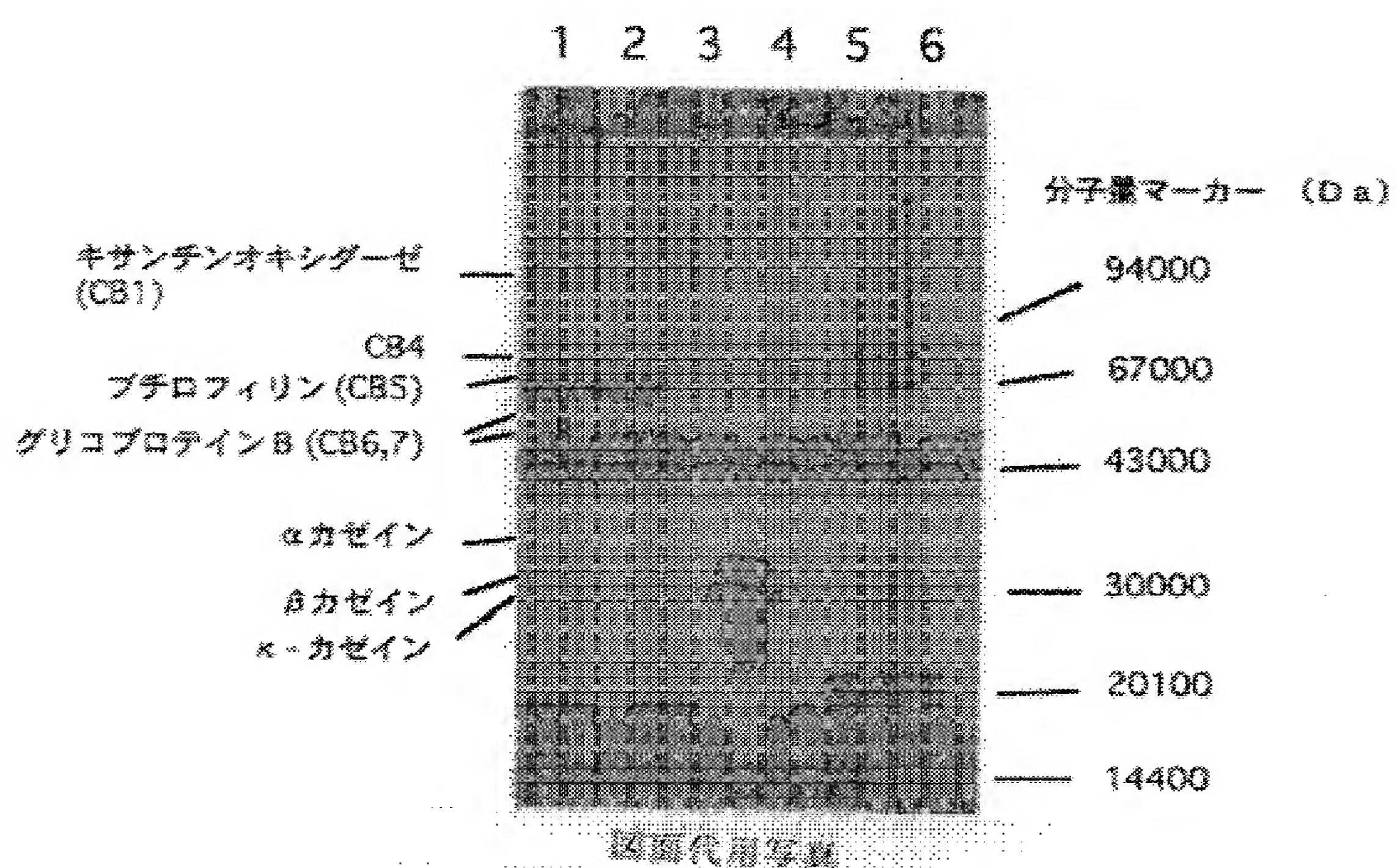
【図6】



【図3】



【図4】



## 【手続補正書】

【提出日】平成8年1月9日

## 【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0034

【補正方法】変更

## 【補正内容】

【0034】

【表2】

第2表

温度	流速 (L/m <sup>2</sup> h)	濃縮液の成分				MF GM回収率 (g/原料バター ミルクkgあたり)
		タンパク質 (%) *	脂肪 (%) *	乳糖 (%) *	全固形分 (%) **	
5°C	102	0.82	0.18	0.06	1.21	2.01
13°C	145	0.81	0.22	0.06	1.15	1.92
20°C	86	0.70	0.24	0.01	0.98	1.64
35°C	486	0.44	0.16	0.03	0.66	1.10
50°C	545	0.42	0.24	0.04	0.71	1.19
60°C	523	0.43	0.20	0.04	0.69	1.15
70°C	98	0.42	0.16	0.04	0.64	1.07

## 【手続補正2】

\* 近赤外分析装置による、

\*\*乾燥法による

35°C未満あるいは70°Cのときは低下した。これらの結果から、MF GMの回収率をあげるには、5°Cから20°Cといった低温で精密濾過を実施するのが望ましく、また時間あたりの膜の処理能力をあげるには、35°C以上60°C程度の温度で実施するのが望ましい。このように、本発明の方法は5°Cから70°Cまでの広い範囲で実施可能であると考えられる。

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0035

【補正方法】変更

## 【補正内容】

【0035】この結果、MF GMの回収率は処理温度が低い程、高い傾向にあった。時間あたりの膜の処理能力は平均流速で表されるが、50°Cのときが最も大きく、

フロントページの続き

(72)発明者 山根 正樹

北海道札幌市広島町輪厚465-1番地 よ  
つ葉乳業株式会社リサーチセンター内

(72)発明者 司城 不二

北海道札幌市広島町輪厚465-1番地 よ  
つ葉乳業株式会社リサーチセンター内